

München, 1960.

**Weitere experimentelle Untersuchungen
über den Einfluß von Heparin auf
Cholesterinablagerungen beim Kaninchen
unter besonderer Berücksichtigung des
Auges**

Ernst Lang



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41554020_0024

AUS DER AUGENKLINIK DER UNIVERSITÄT MÜNCHEN

Direktor: Prof. Dr. W. Rohrschneider

**Weitere experimentelle Untersuchungen
über den Einfluß von Heparin auf
Cholesterinablagerungen beim Kaninchen
unter besonderer Berücksichtigung des
Auges**

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
verfaßt und
einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
Ernst Lang
aus Weiden/Opf.

München 1960

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter:	Privat-Dozent Dr. H. J. KÜCHLE
Mitberichterstatter:	Professor Dr. W. ROHRSCHEIDER
Dekan:	Professor Dr. H. SCHWIEGK

Tag der mündlichen Prüfung: 5. Juli 1960



MEINEN LIEBEN ELTERN
IN DANKBARKEIT GEWIDMET

INHALTSÜBERSICHT

	Seite
A. Einleitung und Fragestellung	5
B. Überblick über das bisherige Schrifttum	7
C. Methodik der eigenen Untersuchungen	13
I. Versuchsanordnung	13
II. Versuchsdurchführung	15
D. Ergebnisse der eigenen Untersuchungen	17
E. Besprechung der Ergebnisse	37
F. Zusammenfassung	40
G. Schrifttumsverzeichnis	41

A. EINLEITUNG UND FRAGESTELLUNG

Im Symposium über Arteriosklerose - Basel 1956 - berichtet v. ALBERTINI über eine sorgfältig durchgeführte statistische Erhebung, gemäss der ungefähr jeder 6. - 7. verstorbene Schweizer eine erhebliche Koronarsklerose hat. Diese trat zu Lebzeiten der betreffenden Personen in etwa drei Vierteln der Fälle klinisch in Erscheinung.

Die Häufigkeit atherosklerotischer Gefässerkrankungen mit nicht seltenen Todesfällen in jungen Jahren macht die Frage der Prophylaxe und Therapie der Atherosklerose zu einer der aktuellsten in der ganzen Medizin.

Am Zustandekommen der atherosklerotischen Wandveränderungen sind verschiedene Faktoren im Sinne eines komplexen Geschehens beteiligt. Im Mittelpunkt des Interesses steht heute wieder die Fettstoffwechselstörung. Hier lassen sich die meisten Beziehungen aufweisen. Folgende Konstellationen haben sich als suspekt erwiesen (Zusammenstellung nach SCHETTLER):

- 1) Gesamtcholesterin im Serum gegenüber Normalwerten gleicher Altersklassen erhöht.
- 2) Phosphorlipide normal oder vermindert.
- 3) Cholesterin : Phosphorlipoid - Quotient über 1 erhöht.
- 4) Gesamte veresterte Fettsäuren und daraus errechnete Neutralfette vermehrt.
- 5) Verschiebung der Lipoproteidverteilung im Sinne einer relativen und absoluten Vermehrung der β -Lipoproteide mit entsprechender Verminderung der α -Lipoproteide.
- 6) Vermehrung der mit der Ultrazentrifuge bestimmten sogenannten atherogenen S_f - Klassen GOFMANS.
- 7) Pathologisches Verhalten der Chylomikronen und glyzerinveresterten Fettsäuren nach probatorischen Fettmahlzeiten.

Demgemäss sind in neuerer Zeit bei der Behandlung der Atherosklerose Substanzen in den Vordergrund getreten, welche auf diese atherogenen Serumveränderungen normalisierend einwirken.

Die vorliegende Arbeit befasst sich mit der Frage, ob sich unter konstanten Versuchsbedingungen (Fütterung beim Kaninchen) alimentäre Cholesterin - Einlagerungen in ihrem Ausmass durch Zugabe von Heparin beeinflussen lassen. Ähnliche

Untersuchungen wurden an der gleichen Klinik bereits von SCHMICH durchgeführt. Der Zweck der eigenen Versuche war, die schon vorhandenen Beobachtungen auf eine breitere Basis zu stellen. Ausserdem sollten die Ergebnisse der früheren Tierexperimente durch Heranziehung weiterer Untersuchungsmethoden tiefer fundiert werden.

Die im Tierexperiment gemachten Beobachtungen können nicht ohne weiteres mit den Verhältnissen beim atherosklerotischen Menschen verglichen werden. Andererseits aber gewährt der Tierversuch mit seinen einheitlichen Versuchsbedingungen (Homogenität des Untersuchungsgutes) wohl dennoch wichtige Einblicke in die therapeutische Beeinflussbarkeit des Serumfaktors und seiner Auswirkungen.

B. ÜBERBLICK ÜBER DAS BISHERIGE SCHRIFTTUM

Die lipotrope Wirkung des Heparins kennt man erst seit 1943. Durch eine Zufallsbeobachtung fand HAHN an der University of Rochester School of Medicine im Heparin ein Mittel, welches imstande ist, lipämisch getrübte Hundeseren aufzuhellen.

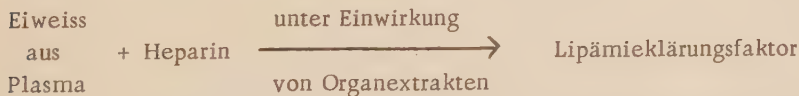
Es sei an dieser Stelle kurz darauf hingewiesen, dass Heparin, bislang als Antikoagulans bekannt, in chemischer Hinsicht einen Polyschwefelsäure-ester des Mukoitins darstellt. Es wurde zuerst aus der Leber isoliert und konnte später auch in anderen Organen (Lunge, Thymus, Corium u. a.) nachgewiesen werden.

HAHN zeigte, dass die Klärung in vivo prompt nach der Heparininjektion erfolgte. Hingegen blieb sie aus, wenn er in vitro zu lipämischem Blut oder Plasma Heparin zusetzte.

Diese neue Heparineigenschaft, welche sehr überraschte, wurde nach eingehender Nachprüfung in den folgenden Jahren von vielen Seiten bestätigt.

ANDERSON (1950) konnte eine Lipämieklärung im Reagenzglas dann erreichen, wenn er das Heparin in Form von heparinisiertem Plasma zugab, d. h. Plasma eines Gesunden, dem vorher Heparin injiziert wurde. Dieses Phänomen deutet darauf hin, dass der Lipämieklärungsfaktor aus einer Reaktion hervorgehen muss, an welcher Heparin als wichtiges Glied teilhat.

Den nächsten wesentlichen Schritt taten ANFENSEN und BROWN (1952/53), welche zeigten, dass durch Inkubation von Plasma mit Heparin und geeigneten Organextrakten (Herz, Pylorus) ebenfalls ein Lipämieklärungsfaktor entsteht. Nach den Anschauungen ANFENSENS lässt sich die Entstehung des Lipämieklärungsfaktors im groben Schema etwa derart darstellen:



Möglicherweise ist die mit dem Organextrakt vorgehende Reaktion fermentativer Natur.

Die Plasmaklärung muss nach ZÖLLNER (1952) als eine Änderung des physikalischen Zustandes der Plasmalipoide angesehen werden. ZÖLLNER fand, dass sich im Zuge der Klärung beim Menschen weder die chemische Zusammensetzung noch die Konzentration der Fette und Lipoide des Blutes ändert.

Dass die Aufrechterhaltung des Klärungszustandes an die Anwesenheit des heparinhaltigen Klärungsfaktors gebunden ist, zeigt die Tatsache, dass man die Klärung durch Protamin rasch beseitigen kann. Heparin besitzt nämlich zum Protamin eine grössere Affinität als zum Klärungsfaktoreiweiss (FRINGS 1954).

Die Wirkungsweise des Klärungsfaktors ist noch wenig erforscht. Inwieweit die Neigung des Heparins, Heparin - Lipoproteinkomplexe zu bilden (CHARGAFF), von Bedeutung ist, muss sich erst erweisen. Allenfalls versetzt die Heparineinwirkung die Plasmafette in einen feiner dispergierten Zustand, welcher einen günstigen Angriffspunkt für Lipasen und andere lipolytische Fermente bilden dürfte (SEITZ).

SEITZ und ZÖLLNER (1955) folgern aus der Wirksamkeit synthetischer Heparinoide, dass die Lipämieklärung ein Charakteristikum vieler heparinähnlicher Substanzen sein kann und deshalb die Anforderungen an die Strukturspezifität des Heparinoids nicht sehr gross sein dürften. Der für die Lipämieklärung zuständige Teil besteht wahrscheinlich aus langkettigen Polysacchariden, welche Schwefelsäureestergruppen tragen. Angewandte Dosis und Klärungseffekt stehen in einem deutlichen Verhältnis zueinander. Klinisch bedeutsam ist, dass die lipämieklärende Wirkung bereits durch Heparinkonzentrationen erreicht werden kann, welche nur unwesentlich gerinnungshemmend wirken. ZÖLLNER fand 1954 ein Abbauprodukt des Heparins, welches auf die Blutgerinnung so gut wie keinen Einfluss hat, dagegen die Klärungseigenschaft in vollem Masse besitzt.

Von der HAHN'schen Beobachtung schlug GOFMAN 1950 die Brücke zur Atherosklerosefrage. GOFMAN und seine Mitarbeiter hatten die bemerkenswerte Feststellung gemacht, dass bei der experimentellen wie bei der menschlichen Cholesterin-Atherosklerose eine bestimmte Gruppe von grossmolekularen Lipoproteinen vorliegt, welche durch ihre Flotationsgeschwindigkeit im Schwerfeld der Ultrazentrifuge genau charakterisiert ist. Nun konnte gezeigt werden, dass sowohl bei cholesteringefütterten Kaninchen als auch beim atherosklerotischen Menschen das Heparin die atherogenen S_f 10-100 Lipoproteine in Richtung kleinerer Moleküle abbaut (GOFMAN, GRAHAM, LOEWE); erwartungsgemäss verminderte das Heparin im Tierversuch weitgehend die Ausbildung atheromatöser Aortenwandveränderungen.

Die Beziehungen zwischen den pathologischen Serumlipoproteiden und den pathologisch-anatomischen Gefässveränderungen sind etwa dergestalt: Die Gefässwand wird - wie schon ANITSCHKOW angenommen hat - ständig von molekularen Stoffen aus dem Blut durchwandert. Nach EVANS können die Moleküle diesen Filtrationsprozess umso schlechter mitmachen, je grösser sie sind. Die grösseren Moleküle sammeln sich also am Gefässlumen an und werden an der Intima angehäuft, wodurch der weitere Stoffaustausch, vor allem der O_2 - Austausch behindert ist. Indem nun Heparin das Auftreten der grossen Moleküle unterbindet,

schafft es günstige Durchwanderungsbedingungen und wirkt auf diese Weise dem Entstehen der Atheromatose entgegen.

Es lag nahe, den Heparineinfluss auf die einzelnen Faktoren der Dyslipämie (gestörte Relation der β/α -Lipoproteide, Hypercholesterinämie, pathologisches Verhalten der Phosphorlipide) und auf tierexperimentell bedingte atheromatöse Ablagerungen eingehender zu untersuchen. Die Ergebnisse dieser Bemühungen finden sich in zahlreichen Berichten niedergelegt, von denen hier nur Ausschnitte in ihren wesentlichsten Punkten angeführt werden können:

LEVER und Mitarbeiter (1953) führten genaue blutchemische Untersuchungen an einer Anzahl von Patienten mit primärer hypercholesterinämischer Xanthomatose und idiopathischer Hyperlipämie durch. Bei der grossen Mehrzahl der Fälle konnte schon kurz nach der i.v. Injektion von 50 mg Heparin eine beachtliche Abnahme der erhöhten β -Lipoproteide zugunsten der α -Lipoproteide beobachtet werden. Die hohen Gesamtcholesterinwerte, die nach FISCHER und KROETZ immer auf ein pathologisches Lipoproteidspektrum mit vermehrter β -Fraktion hinweisen, sanken unter der Heparinwirkung ebenfalls ab. Die Verfasser versuchen die Zunahme der elektrophoretischen Wanderungsgeschwindigkeit der β -Lipoproteide nach der Heparininjektion damit zu erklären, dass entweder eine Kombination mit Heparin (welches eine hohe negative Ladung hat) die negative Ladung der β -Lipoproteide erhöht oder dass Heparin mittels seiner lipolytischen Fähigkeit eine Grössenabnahme der β -Lipoproteidmoleküle bewirkt.

HRABANE und REINIS (1956) konnten mit Hilfe der Papierelektrophorese ebenfalls nachweisen, dass unter der Einwirkung von Heparin im Lipoidogramm ein Teil der β -Lipoproteidfraktion in den Bereich der α -Globuline wandert, während ein kleiner Rest bei den β -Globulinen verbleibt. Die Autoren sprechen die Vermutung aus, dass die Änderung der Wanderungsgeschwindigkeit der β -Lipoproteide nach der Heparininjektion darauf beruhen könnte, dass unter seiner wahrscheinlich enzymatischen Wirkung es zu einer Hydrolyse der hochmolekularen Lipoproteide kommt.

KEESER veröffentlichte 1953 seine tierexperimentellen Erfahrungen mit dem Heparinoid Thrombocid. Einer Reihe von Kaninchen wurde Adrenalin und Cholesterin verabfolgt (jeden 2. Tag 0,5 g in Olivenöl gelöstes Cholesterinpalmitat per Schlundsonde sowie täglich 0,3 mg Adrenalin pro kg Körpergewicht i.v.), dazu täglich 2 ccm Thrombocid injiziert. Nach 44 - 80 tägiger Versuchsdauer fand sich histologisch neben ganz geringen Cholesterinablagerungen nur ein Wandödem der Aorta unter Bevorzugung der lichtungsnahen Teile mit kleinen hyalinen Ausfällungen neben Frühformen der Fibringerinnung.

MOSES und RHODES berichten in einer Arbeit aus dem Jahre 1954 über negative Ergebnisse mit Heparin. Bei 61 Kaninchen, die dreimal wöchentlich zum Stan-

dardfutter etwa je 3,0 g Cholesterin erhielten, konnte durch Gabe von Depot-Heparin (3 mal wöchentlich 10,0 mg i. m.) das Auftreten einer Fütterungssklerose im Vergleich zu den Kontrolltieren nicht eingeschränkt werden. Die allgemein extrem erhöhten Werte der Blutlipide lagen bei den mit Depot-Heparin behandelten Tieren meist höher als bei den ausschliesslich cholesteringefütterten Vergleichsgruppen. Mit einer einmaligen i. v. Gabe von 100,0 mg Sodium-Heparin konnte bei den Tieren mit maximaler Erhöhung der Lipide und Lipoproteide im Durchschnitt nur ein weniger als 20 % vom Ausgangspunkt betragender Abfall der einzelnen Plasmakomponenten erreicht werden. Die Verfasser betonen, dass diese Ergebnisse denen früherer Arbeiten widersprechen.

Nach SEITZ und ZÖLLNER (1955) wird der bei Lipämie ohnehin vermehrte Lipidphosphor nach der Injektion von Heparin nur in einem Teil der Fälle weiter gesteigert. Wiederholt konnte ein Abfall der Cholesterinkonzentration 4 - 6 Stunden nach der Heparinapplikation beobachtet werden. Es wird der Verdacht geäussert, dass im Hinblick auf den späten Eintritt der Wirkung nicht das Heparin selber, sondern sekundär ausgelöste Reaktionen für die Serumbefunde verantwortlich zu machen seien.

Tierexperimentell konnte bei Kaninchen, denen neben Cholesterin und Öl subkutan Depot-Heparin zugeführt wurde, nur eine geringfügige Ausbildung einer Atheromatose der Aorta beobachtet werden.

Das Verhalten der Mastzellen, der eigentlichen physiologischen Heparinträger (JOPES), bei der Arteriosklerose ist noch sehr wenig untersucht. GOFMAN und auch ANFENSEN stellten die These auf, dass die Ursache der Arteriosklerose in einem Mangel an Heparin oder heparinähnlichen Substanzen zu suchen sei. Immerhin konnte COPPO (1956) beim hypercholesterinen Typ der Atherosklerose (Untersuchung der Cholesterinämie in 60 Fällen von Myokardinfarkt) einen deutlich verminderten Gehalt des Plasmas an heparinoiden Substanzen (N-octylamin) gegenüber den Kontrollen nachweisen. Man kann nach ANTONINI und SALVINI (1956) zeigen, dass zwischen der Verminderung der metachromatischen Stoffe (Heparinoide) des Blutplasmas und der Zunahme des β/α -Lipoprotein-Quotienten ein umgekehrtes Verhältnis besteht (diese Korrelation gilt nicht für das vorgerückte Alter).

Klinische Erfahrungen mit Heparin bei Arteriosklerose

Ogleich die Arteriosklerosetherapie mit Heparin über die ersten Anfänge noch nicht wesentlich hinaus ist, liegen in der Literatur bereits zahlreiche Mitteilungen vor. Die Ergebnisse sind nicht einheitlich, jedoch nehmen die positiven Erfahrungen den weitaus grösseren Raum ein.

Es wäre einseitig, die doch oft recht beachtlichen Erfolge nur jener therapeuti-

schen Komponente des Heparins zuzuschreiben, welche regulierend in den gestörten Blutfetthaushalt eingreift. Es gelangen wohl meistens gleichzeitig auch die antikoagulatorischen bzw. fibrinolytischen sowie die neuerdings festgestellten blutdrucksenkenden (KELLER) Valenzen des Heparins zur Auswirkung.

ENGELBERG (1952) erreichte mit Heparin bei schwerer Koronarsklerose in ungefähr der Hälfte von 29 Fällen eine Verminderung der Heftigkeit und des Auftretens von anginösen Attacken. Dass dieser Erfolg kein gesetzmässiger ist, zeigen die negativen Resultate von RINZLER und Mitarbeitern. Später konnte ENGELBERG auch bei peripherer Atherosklerose eine günstige Wirkung des Heparins aufzeigen. Obwohl dem Heparin eine vasodilatatorische Wirkung zukommt, ist sie nach ENGELBERG bei den angewandten Dosen von etwa 100,0 mg zweimal je Woche zu gering, um die Strömungsvermehrung bei der peripheren Atherosklerose zu erklären, vor allem auch deshalb, weil die gleichen Patienten vorher auf vasodilatatorische Mittel nicht reagiert hatten.

GRÜNER und Mitarbeiter sowie SIMON und WRIGHT (1953) konnten in mehreren Fällen von Claudicatio intermittens mit Heparin keine nennenswerte Besserung erzielen.

KELLER (1954) berichtet über die Behandlungsergebnisse von 42 Patienten mit arteriosklerotischen Durchblutungsstörungen des Herzens, der Extremitäten und des Gehirns. Insgesamt betrachtet - nach 1 bis 1 1/2 Jahren Beobachtungszeit - werden die Ergebnisse als günstig gewertet. Subjektiv wurde sehr häufig Besserung bzw. Beschwerdefreiheit erreicht, während objektiv der Zustand stationär gehalten oder sogar verbessert werden konnte.

THURNHERR, der bereits 1954 seine therapeutischen Erfolge mit Heparin bei Koronarsklerose, koronaren Beschwerden bei Hypertonie und Arteriosclerosis cerebri veröffentlichte, hat seine inzwischen erweiterten Erfahrungen 1956/57 in nachfolgender Gesamtübersicht über 93 Arteriosklerosefälle (vorwiegend Patienten mit stenokardischen Beschwerden) wiedergegeben:

fast oder ganz beschwerdefrei	12 = 13 %
subjektiv oder objektiv gebessert	31 = 33 %
subjektiv gebessert	32 = 34 %
unverändert oder verschlechtert	18 = 19 %

Praktisch sprachen also rund 80 % auf die Heparintherapie an, während rund 20 % nicht reagierten. Das Durchschnittsalter der behandelten Patienten betrug 65 1/2 Jahre.

VOIGT und Mitarbeiter (1957) haben anlässlich ihrer Untersuchungen an über 100 arteriosklerotischen Patienten, von denen ein Teil mit Heparin behandelt wurde, festgestellt, dass in Übereinstimmung mit SCHETTLER und im Gegensatz

zu GOFMAN keine positive Korrelation zwischen dem Grad der blutchemischen Veränderungen und der Ausprägung atherosklerotischer Prozesse zu finden war. Vor einer Überbewertung des "Serumfaktors" in diagnostischer wie in therapeutischer Hinsicht muss also gewarnt werden. Immerhin zeigte sich während der Applikationsdauer des Heparins in vielen Fällen ein deutlicher Einfluss auf Veränderungen im Serum und in der Gefäßwand. Man beobachtete in Zusammenarbeit mit den Ophthalmologen teilweise eine Zunahme der zentralen Sehschärfe und einen Rückgang vorhandener Zentralskotome, obwohl es initial zu einem passageren Anstieg der Blutlipide kam.

In der Ophthalmologie hat sich besonders STARK (1957) der Heparintherapie angenommen. Bei der Behandlung von akuten Verschlussereignissen im Bereich der Netzhautarterien, die sich auf dem Boden einer Gefäßsklerose ausgebildet hatten, konnten ausgezeichnete Ergebnisse erzielt werden. Dabei wurde die antikoagulierende Dosierung des Heparins mit der unterschwellig lipolytischen kombiniert angewandt.

Von über 90 Patienten mit atherosklerotisch bedingten Foveaprozessen sprach die Mehrzahl auf Heparin günstig an. Bestimmte blutchemische Veränderungen während der Heparinanwendung erwiesen sich als zeitlich eng gekoppelt mit charakteristischen Gewebsreaktionen wie vermehrter Durchblutung, Gewebsauflockerung, Exsudation und zentrifugal gerichteten Abräumprozessen von Lipoidsubstanzen von der Makula zur Foveaperipherie.

Es zeigte sich, dass der therapeutische Erfolg des Heparins in hohem Masse von der richtigen Dosierung abhängt, welche auf jedes Stadium des arteriosklerotischen Krankheitsbildes neu abgestimmt werden muss.

C. METHODIK DER EIGENEN UNTERSUCHUNGEN

I. Versuchsanordnung

Aus 24 Kaninchen beiderlei Geschlechts mit einem Durchschnittsalter von 5 - 6 Monaten und einem Durchschnittsgewicht von 2500 g wurden 3 Gruppen (K, H, N) zu je 8 Tieren gebildet:

Gruppe K	Gruppe H	Gruppe N
Nr. 1 (+)	Nr. 9 (+)	Nr. -
2 (+)	10 (+)	26 (+)
3 (=)	11 (=)	27 (=)
4 (o)	12 (o)	28 (o)
5 (-)	13 (-)	29 (-)
6 (&)	25 (+)	30 (&)
7 (x)	15 (x)	31 (x)
8 (§)	16 (§)	32 (§)

In obiger Zusammenstellung sind die Tiere gleichen Wurfes mit gleichen Markierungen gekennzeichnet.

Tier Nr. 14 der Gruppe H fiel vor Versuchsbeginn infolge Exitus aus und wurde durch Tier Nr. 25 aus der Gruppe N ersetzt.

Sämtliche Tiere wurden regelmässig mit Normalkost gefüttert, welche vorwiegend aus Grünzeug, Rüben, Hafer, Heu und Brot bestand. Ausserdem erhielten:

- a) die Tiere der Gruppe K täglich je 1,0 g Cholesterin
+ 2,0 ccm Olivenöl,
- b) die Tiere der Gruppe H täglich je 1,0 g Cholesterin
+ 2,0 ccm Olivenöl
+ 10 mg =1000 E Heparin
(Depot-Liquemin);
- c) die Tiere der Gruppe N blieben unbehandelt, um am Ende des Versuchs Vergleichszwecken zu dienen.

Das in Olivenöl gelöste Cholesterin wurde den Tieren per Schlundsonde (Nélaton-Katheter 19) verabreicht. Im folgenden sei die Zubereitung des Cholesterin-Olivenöl-Breis kurz beschrieben:

Es wurden jeweils die für 1 Woche benötigten Mengen Cholesterin und Oliven-

öl im Verhältnis 1,0 g : 2,0 ccm gut vermischt und unter ständigem Umrühren bis auf ca. 65° erhitzt. Dann wurde das Gemisch im Wasserbad abgekühlt, bis es halbsteife Konsistenz annahm. Schliesslich wurde diese zähflüssige Masse im Mörser zu einem annähernd homogenen, sahnigen Brei verarbeitet und bis zur weiteren Verwendung in luftdicht verschlossenen Gläsern aufbewahrt.

Das Heparin verabfolgten wir in wässriger Lösung (10 mg Heparin in 1,0 ccm aqua dest.) mittels intramuskulärer Injektionen abwechselnd in die beiden oberen Hinterläufe.

In Tabelle 1 soll übersichtlich dargestellt werden, welche Gesamtmenge an Cholesterin und Olivenöl sowie Heparin die einzelnen Tiere entsprechend dem jeweiligen Fütterungszeitraum verabreicht bekamen, und wie sich dabei das Körpergewicht bei Versuchsende bzw. Ausfall des Tieres (+) gegenüber dem Körpergewicht bei Versuchsbeginn (*) verhielt:

Tabelle 1

Kaninchen		Gewicht		Gesamtzahl der Fütterungstage	Gesamtfütterungsmenge		
Gruppe	Nr.	(in g)			Cholesterin (in g)	Olivenöl (in ccm)	Heparin (in mg)
		*	†				
K	1	3010	3750	93	93	186	-
K	2	2190	2170	81	81	162	-
K	3	3010	3300	93	93	186	-
K	4	2190	3005	87	87	174	-
K	5	2040	2180	32	32	64	-
K	6	2300	2360	84	84	168	-
K	7	3020	3390	90	90	180	-
K	8	2100	2080	78	78	156	-
H	9	1910	1980	16	16	32	160
H	10	2110	2485	81	81	162	810
H	11	2770	2910	90	90	180	900
H	12	2620	2370	75	75	150	750
H	13	2065	1920	75	75	150	750
H	25	2135	2200	24	24	48	240
H	15	2745	2490	84	84	168	840
H	16	2370	2520	87	87	174	870

Während der vom 3. November 1958 bis zum 19. Februar 1959 laufenden Versuchsreihe wurde mit der Behandlung der Tiere lediglich an den Sonntagen ausgesetzt. Die Durchführung der Versuche geschah in Zusammenarbeit mit HENKEL, der bei

gleicher Versuchsanordnung anstelle von Heparin das Präparat Essentiale 157 (Nattermann) verwendete. Die Befunde, welche die Vergleichsserien K und N lieferten, verwerteten wir der Einfachheit halber gemeinsam.

II. Versuchsdurchführung

Neben der täglichen Cholesterinfütterung und Heparinapplikation wurden in unserem Versuch folgende weitere Massnahmen getroffen:

1. Gewichtskontrolle

Die Tiere wurden alle 14 Tage gewogen.

2. Fortlaufende blutchemische Untersuchungen

- a) Bestimmung des Gesamtcholesterins im Serum nach der Methode von SCHÖNHEIMER und SPERRY.
- b) Bestimmung der Phosphorlipide im Serum nach der Methode von SCHMIDT, BENOTTI, HERSHMAN und THANNHAUSER.
- c) Bestimmung der α - und β -Lipoproteidfraktion im Blutserum mittels Papier-elektrophorese (vornehmlich nach SWAHN, Methode A).

Das Blut für die Untersuchungen wurde jeweils frühestens 18 Stunden nach der letzten Fütterung aus der Ohrvene der Tiere entnommen und zwar bei jedem Tier

zweimal vor Fütterungsbeginn und

fünfmal nach Fütterungsbeginn (nach 1 bzw. 2, 5, 7, 11 und 13 Wochen).

3. Regelmässige Untersuchungen der Cornea

Die Hornhaut wurde wöchentlich makroskopisch und spaltlampenmikroskopisch untersucht, um die Entwicklung des Arcus lipoides zu verfolgen.

4. Wiederholte Untersuchungen des Fundus mit dem elektrischen Augenspiegel

Dabei wurde vor allem nach Lipoidablagerungen in der Netzhaut Ausschau gehalten.

Die oben angeführten Untersuchungen (1 - 4) wurden während des Fütterungszeitraums durchgeführt.

Nach der 13. Fütterungswoche wurden die Tiere durch Dekapitation mit einem Hieb getötet und nach gründlichem Ausbluten sezziert. Die Tötung der Tiere erstreckte sich über fast 4 Wochen (6 Tiere je Woche). Sämtliche Tiere wurden bis zu ihrem Tötungstag noch weitergefüttert.

Vor dem festgesetzten Tötungstermin starben die Tiere

- Nr. 9 (in der 3. Fütterungswoche),
- Nr. 25 (in der 5. Fütterungswoche),
- Nr. 5 (in der 6. Fütterungswoche);
- Nr. 26 aus Gruppe N (in der 10. Versuchswoche).

Gegen Ende der letzten Fütterungswoche starben die Tiere Nr. 12 und 13. Die Sektion erfolgte sofort.

Folgendes Sektionsmaterial unterzogen wir genauerer Betrachtung:

5. Aorten

Die Aorten wurden in ihrer Ausdehnung vom Herzen bis zu der Stelle, wo die Teilung in die beiden grossen Äste für die Hinterläufe erfolgt, herauspräpariert.

- a) Nach dem Befall mit atheromatösen Plaques wurde eine makroskopische Gradeinteilung getroffen.
- b) Ausserdem wurde der makroskopische Befund direkt auf Cellophanpapier übertragen. Die so erhaltenen Abbildungen der atheromatösen Herde wurden später mit Hilfe der Fotoprojektion in 5, 8 facher Vergrösserung auf Papier nachgezeichnet und dann gravimetrisch bestimmt.
- c) Der Cholesteringehalt der Aorten wurde quantitativ analysiert. Zu diesem Zweck wurden die Aorten im Homogenisator zerkleinert. Als Lösungsmittel diente ein Äther-Alkohol-Gemisch im Verhältnis 1 : 3. Gleichermassen wurde mit Leber, Cornea, Uvea, Sklera und Linse verfahren (s. u.).

6. Leber

Quantitative Cholesterinbestimmung.

7. Nebennieren

Wägung der rechten und linken Nebenniere.

8. Milz

Histologische Untersuchung der roten und weissen Pulpa sowie der Milzgefässe.

9. Herz

Für die histologische Untersuchung der Herzmuskelfasern und der Koronargefässe wurde ein pennniggrosses Organstück aus dem linken Herzen exzidiert.

10. Augen

- a) Histologische Untersuchung der Schnittpräparate ungefärbt (polarisationsmikroskopisch) sowie nach Fettfärbung (Sudan III).
- b) Quantitative Cholesterinbestimmung in den einzelnen Augenorganen (Cornea, Uvea, Sklera und Linse).

Die unter b) erhobenen Befunde finden sich in der Dissertation von HOLLENBACH (München 1959) eingehend dargestellt.

Die Cholesterinwerte der Cornea werden von uns vergleichshalber unten bei der Besprechung der Arcus-Befunde angeführt.

D. ERGEBNISSE DER EIGENEN UNTERSUCHUNGEN

1. Gewichtsverlauf

Das Gewicht der Tiere lag im Durchschnitt zu Versuchsende geringfügig höher als zu Versuchsbeginn, in einzelnen Fällen auch etwas niedriger. Zwischen den 3 Gruppen K, H und N konnten bezüglich des Gewichtsverlaufs keine wesentlichen Unterschiede festgestellt werden. Deshalb dürfte es sich erübrigen, die jeweils ermittelten Gewichtswerte im einzelnen tabellarisch darzustellen, zumal ja in Tabelle 1 die wichtigsten Daten des Gewichtsverlaufs je Tier bereits aufgezeichnet wurden.

2. Blutchemische Befunde

a) Gesamtcholesterin des Serums vor und während der Fütterung über 13 Wochen bei den Versuchsgruppen K und H (siehe Tabelle 2):

Tabelle 2: Cholesteringehalt des Blutserums in mg%.

Gruppe	Tier Nr.	1. Leer	2. Leer	1 Woche	5 Wochen	7 Wochen	11 Wochen	13 Wochen
K	1	90	80	158	580	1069	976	1032
K	2	88	93	205	602	858	1388	1962
K	3	82	53	198	570	1124	1307	1549
K	4	74	57	180	646	1169	1968	2588
K	5	108	57	190	396	--	--	--
K	6	80	78	330	327	362	316	681
K	7	53	75	305	414	536	598	622
K	8	69	82	220	462	905	1044	1090
Mittelwerte:		81	72	223	500 ± 115	860 ± 307	1085	1366 ± 582
H	9	84	99	345	--	--	--	--
H	10	73	122	176	398	674	1338	983
H	11	65	96	234	330	683	700	556
H	12	73	104	195	378	624	909	1418
H	13	47	125	201	374	444	1339	--
H	25	111	94	186	--	--	--	--
H	15	50	79	266	414	780	1498	1203
H	16	58	85	208	352	582	712	651
Mittelwerte:		70	101	226	374 ± 30	631 ± 113	1083	962 ± 363

Fehler der Methode (= durchschnittliche Differenz der jeweils durchgeführten Doppelbestimmungen in mg%) : 6 mg%.

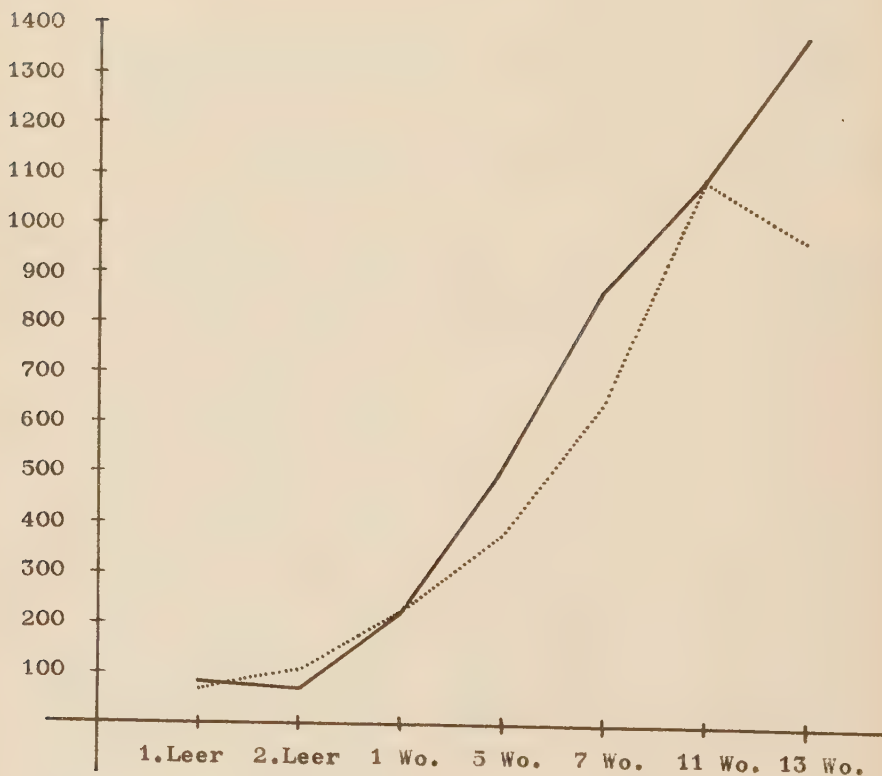
Abbildung 1 zeigt eine graphische Gegenüberstellung der datungsgleichen Mittelwerte des Serumgesamtcholesterins, welche sich für die Gruppen K und H während des Versuchs ergaben.

Abbildung 1: Beziehung der durchschnittlichen Serumcholesterinwerte zwischen Gruppe K (—) und Gruppe H (.....) während der Versuchsdauer.

Ordinate: Cholesterinwerte in mg%

Abszisse: Untersuchungstermine

(Leerwerte und Werte nach 1, 5 .. usw. Wochen)



Beurteilung: Zugleich mit Beginn der Cholesterinfütterung setzte ein steiler Anstieg der Serumcholesterinwerte ein, welcher während der ganzen Versuchsdauer seine aufstrebende Richtung ständig beibehielt. Zwischen Gruppe K und Gruppe H bestand zu keinem Zeitpunkt der Untersuchung eine signifikante Differenz der Serumcholesterinwerte.

b) Gehalt des Serums an Phosphorlipoiden vor und während der Fütterung über 13 Wochen bei den Gruppen K und H (siehe Tabelle 3):

Tabelle 3: Phosphorlipidgehalt des Blutserums im mg%

Gruppe	Tier Nr.	1. Leer	2. Leer	1 Woche	5 Wochen	7 Wochen	11 Wochen	13 Wochen
K	1	146?	88	100	330	338	303	416
K	2	116	86	138	349	302	318	426
K	3	45	31	125	338	163	262	348
K	4	-	53	146	404	409	721	829
K	5	80	49	68	366	-	-	-
K	6	72	47	161	316	353	148	190
K	7	37	25	62	247	476	182	259
K	8	45	25	108	302	478	232	350
Mittelwerte:		77	51	113	332	360	309	403
H	9	66	37	145	-	-	-	-
H	10	80	44	100	356	555	460	343
H	11	56	40	102	276	401	199	197
H	12	68	50	137	318	418	197	-
H	13	26	25	93	190	-	179	-
H	25	68	36	118	-	-	-	-
H	15	48	45	142	240	-	392	-
H	16	45	43	142	276	-	231	-
Mittelwerte:		57	40	122	276	-	276	-

Fehler der Methode durchschnittlich etwa 7 mg%

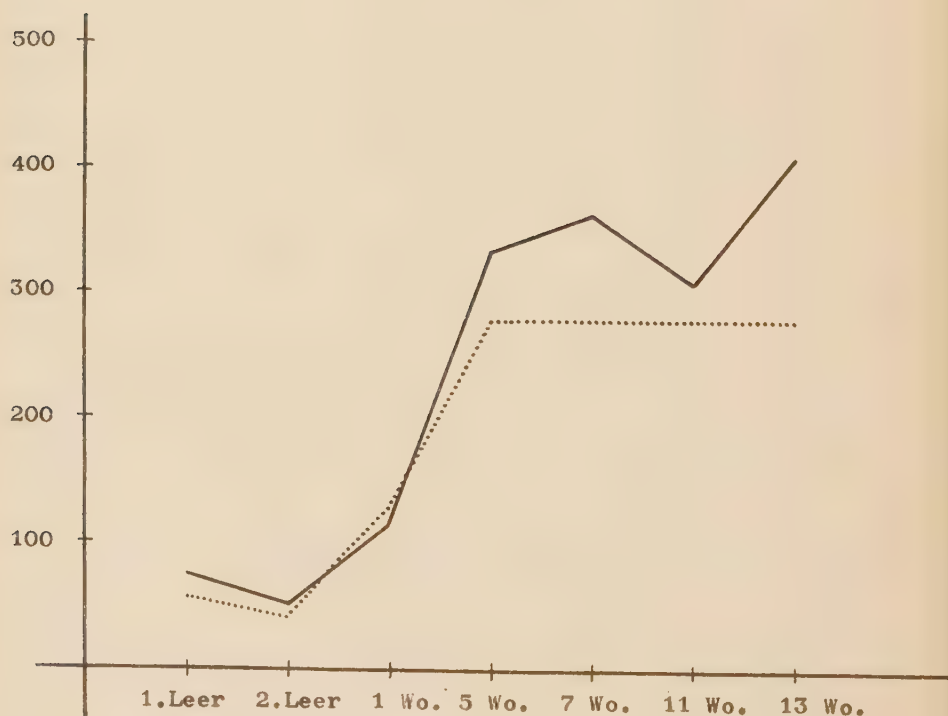
In Abbildung 2 finden sich die datumgleichen Mittelwerte der Serumphosphorlipide bei den Gruppen K und H gemäss dem Versuchsverlauf in einem Diagramm gegenübergestellt.

Abbildung 2: Beziehung der durchschnittlichen Serumphosphorlipoidwerte zwischen Gruppe K (—) und Gruppe H (.....) während der Versuchsdauer.

Ordinate: Phosphorlipoidwerte in mg%

Abszisse: Untersuchungstermine

(Leerwerte und Werte nach 1, 5 .. usw. Wochen)



Beurteilung: Mit der Cholesterinfütterung erfuhr der Phosphorlipoidgehalt des Serums eine beträchtliche, ständig zunehmende Erhöhung, so dass gegen Versuchsende etwa die 6 fache Höhe des Normalwertes erreicht wurde. Diese Feststellung gilt sowohl für Gruppe K wie Gruppe H. Zu keinem Zeitpunkt der Untersuchung konnte zwischen den beiden Gruppen eine signifikante Differenz der Phosphorlipoidwerte beobachtet werden.

- c) Verhalten der α - und β -Lipoproteide des Serums vor und während der Fütterung über 13 Wochen bei den Gruppen K und H.

29 elektrophoretische Bestimmungen vor Fütterungsbeginn ergaben im Durchschnitt das Verhältnis 26 % α -Lipoproteide gegenüber 74 % β -Lipoproteide.

Tabelle 4 zeigt, wie sich zu den verschiedenen Zeitpunkten der Untersuchung während der Fütterung die α -Lipoproteidwerte gegenüber den β -Lipoproteidwerten bei den beiden Versuchsgruppen K und H verhielten.

Tabelle 4: Angaben der jeweiligen Serumlipoproteid - Durchschnittswerte der beiden Versuchsgruppen in prozentualen Anteilen der α -Fraktion.

(z.B.: 18 = 18 % α -Lipoproteide und 82 % β -Lipoproteide)

Zeitpunkt der Untersuchung	Gruppe K	Gruppe H
nach 1 Woche Fütterung	18	17
nach 5 Wochen Fütterung	8	9
nach 7 Wochen Fütterung	7	7
nach 11 Wochen Fütterung	7	7
nach 13 Wochen Fütterung	7	7

Beurteilung: Während der Cholesterinfütterungszeit nahmen die kleinen Moleküle der α -Lipoproteidfraktion zunehmend zugunsten einer kontinuierlichen Vermehrung der größeren β -Lipoproteide ab. Dieses Verhalten war bei beiden Fütterungsgruppen K und H ein völlig gleiches.

3. Cornea - Befunde

Bereits zu Beginn der 3. Fütterungswoche zeigte sich bei einem Tier aus der Gruppe K eine beginnende Arcusbildung. Bei der Gruppe H konnte die erste Andeutung eines Arcus lipoides in der 4. Fütterungswoche beobachtet werden. In der 7. Fütterungswoche boten sämtliche Tiere beider Gruppen einen mehr oder weniger deutlichen Arcusbefund dar, wobei die Arcusentwicklung bei Gruppe H im Vergleich zur Gruppe K etwas verzögert war.

In der 11. Versuchswoche erkrankte das linke Auge von Tier Nr. 11 an eitriger Conjunctivitis. Dabei kam es innerhalb von 6 Tagen zu einer hochgradigen Arcusausbildung.

Die verschiedenen Arcusausmasse definierten wir folgendermassen:

Arcus - Grad 0:	kein Arcus
Arcus - Grad I:	schmäler Arcus an einzelnen Stellen der Hornhaut, nicht im ganzen Umfang.
Arcus - Grad II:	schmäler Arcus im ganzen Umfang oder breiterer Arcus stellenweise.
Arcus - Grad III:	breiter Arcus im ganzen Umfang oder sehr breite bis in's Parazentrum hineinreichende Cholesterin- ablagerungen an mehreren Stellen.

Die Arcusausprägung erreichte bis Versuchsende individuell verschieden starke Grade. Die entsprechende Disposition der einzelnen Tiere erwies sich als wesentlich abhängig von der Wurfzugehörigkeit.

Beobachtet wurden bei Gruppe K:	Arcus - Grad I	5 mal
	Arcus - Grad II	1 mal
	Arcus - Grad III	8 mal
bei Gruppe H:	Arcus - Grad I	2 mal
	Arcus - Grad II	7 mal
	Arcus - Grad II - III	1 mal
	Arcus - Grad III	2 mal

Bei den Kontrolltieren der Gruppe N fand sich zu Versuchsende kein Arcus. Spaltlampenmikroskopisch konnte bei einigen von ihnen am Limbus eine feine weissliche Linie festgestellt werden, die jedoch keine körnigen Einlagerungen enthielt und bei stärkerem Pigmentsaum zentralwärts von diesem gelegen war. Es dürfte sich hierbei um etwas vorgeschobene Bindehaut gehandelt haben.

Es erscheint zweckmässig, die einzelnen Augenbefunde an je einem typischen Einzelbeispiel aus Gruppe K und H in Form von Protokollauszügen hier aufzuzeigen.

Protokollauszüge von Tier Nr. 2 (Gruppe K)

3.11.58 (Vorbefund vor Versuchsbeginn):	rechts und links reizfrei und äusserlich unauffällig.
11.11.58:	unverändert.
18.11.58:	fraglicher, ganz zart beginnender Arcus oben beiderseits (Grad 0 - I).

25. 11. 58: links und rechts schmaler Arcus oben (Grad I).
2. 12. 58: beiderseits schmaler Arcus nunmehr im ganzen Umfang (Grad II).
9. 12. 58: unverändert.
16. 12. 58: unverändert.
23. 12. 58: unverändert.
29. 12. 58: unverändert.
5. 1. 59: beiderseits kräftiger Arcus im ganzen Umfang (Grad II - III).
14. 1. 59: deutlicher, stellenweise verbreiteter Arcus im ganzen Umfang (links Grad II - III, rechts Grad III).
20. 1. 59: Arcusausmass nunmehr beiderseits Grad III.
27. 1. 59: unverändert.
3. 2. 59 (Abschlussbefund): rechts ziemlich breiter Arcus, durch alle Schichten gehend, ohne freies Intervall und ohne eindeutige Pigment-saumbegrenzung; Arcuszone leicht prominent und glitzernd; sonst vordere Abschnitte unauffällig;
links ähnliches Bild wie rechts; in den verbreiterten Bezirken temporal unten deutliche Felderung der Arcus-zone und mässig kaliberstarke oberflächliche Gefässeinsprossung.

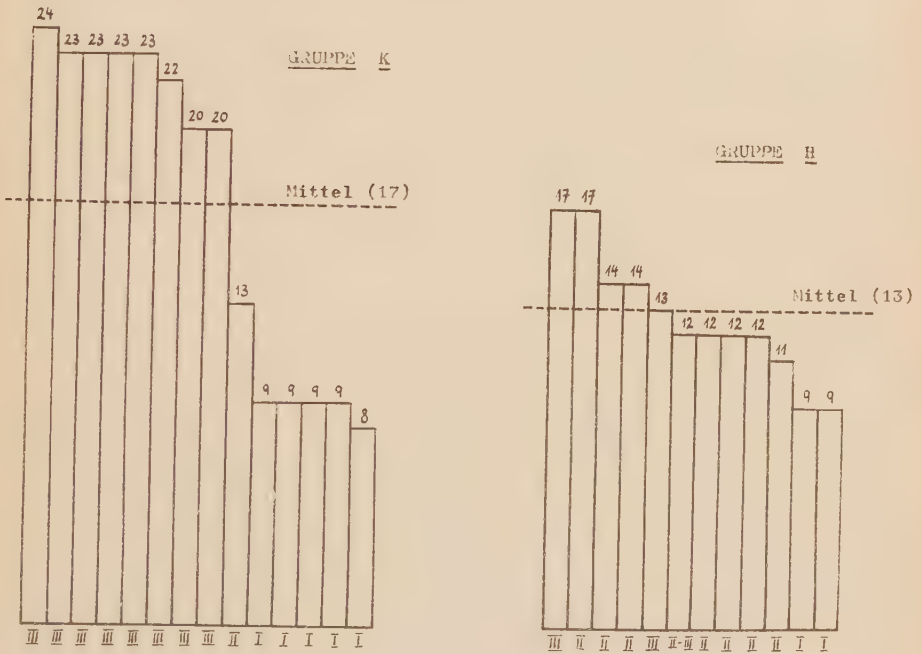
Protokollauszüge von Tier Nr. 16 (Gruppe H)

3. 11. 58 (Vorbefund vor Versuchsbeginn): vordere Abschnitte beiderseits unauffällig.
11. 11. 58: unverändert.
18. 11. 58: unverändert.
25. 11. 58: links beginnender Arcus temporal oben (Grad I),
rechts noch kein Arcus.

2. 12. 58: links schmaler Arcus fast im ganzen Umfang (Grad I),
rechts schmaler Arcus vor allem nasal und temporal (Grad I).
9. 12. 58: unverändert.
16. 12. 58: links Arcus fast im ganzen Umfang, oben etwas breiter (Grad II),
rechts schmalerer Arcus nasal und temporal oben (Grad I).
23. 12. 58: stellenweise breiterer Arcus, links deutlicher als rechts (links Grad II, rechts Grad I - II).
29. 12. 58: nunmehr beiderseits deutlicher Arcus fast im ganzen Umfang (Grad II).
5. 1. 59: unverändert.
14. 1. 59: unverändert.
20. 1. 59: unverändert.
27. 1. 59: unverändert.
10. 2. 59 (Abschlussbefund): Nicht sehr breiter, aber kräftiger, durch alle Schichten gehender Arcus, leicht prominent und grobkörnig, mit peripherem Pigmentsaum, ohne freies Intervall, unten etwas breiter, zentralwärts wellig begrenzt; keine Einsprossung von Gefässen; Befund links wie rechts.

Einen Gesamtüberblick über das Ausmass der Arcusausbildung bei den beiden Versuchsgruppen K und H soll die Abbildung 3 vermitteln.

Abbildung 3: Die Höhe der einzelnen Säulen entspricht dem jeweils über ihnen stehenden Zahlenwert (Arcuszahl), welcher durch Addition der am Einzelauge in regelmässigen Zeitabständen (wöchentlich) ermittelten Arcusgrade (0 - III) errechnet wurde. Auf diese Weise wurde nicht nur das zu Versuchsende bestehende Ausmass der Arcusbildung (römische Ziffern am Fusse der Säulen), sondern auch der Zeitpunkt des Auftretens und die Intensität seiner Weiterentwicklung berücksichtigt. Die obere Horizontale (-----) kennzeichnet den Mittelwert sämtlicher Arcuszahlen je Gruppe.



In Tabelle 5 finden sich Ausmass der Arcusbildung bei Versuchsende, dazugehörige Arcuszahl und entsprechender Cholesteringehalt der Cornea gegenübergestellt.

Tabelle 5: Cornea - Befunde

Gruppe	Kaninchen Nummer	Auge	Arcuszahl = Summe der Arcusgrade	Arcusgrad bei Versuchsende	Cholesteringehalt der Cornea (in mg%)
K	1	rechts	23	III	364
		links	23	III	
K	2	rechts	23	III	315
		links	22	III	
K	3	rechts	9	I	171
		links	9	I	
K	4	rechts	23	III	221
		links	24	III	
K	5	rechts	-	-	-
		links	-	-	
K	6	rechts	8	I	73
		links	13	II	
K	7	rechts	9	I	162
		links	9	I	
K	8	rechts	20	III	175
		links	20	III	
Mittelwert:			17		212
H	9	rechts	-	-	-
		links	-	-	
H	10	rechts	9	I	72
		links	9	I	
H	11	rechts	12	II-III	220
		links	13	III	
H	12	rechts	17	III	-
		links	14	II	
H	13	rechts	12	II	-
		links	12	II	
H	25	rechts	-	-	-
		links	-	-	
H	15	rechts	11	II	132
		links	12	II	
H	16	rechts	14	II	134
		links	17	II	
Mittelwert:			13		139
Mittlerer Cholesteringehalt der Cornea bei Gruppe N:					63

Beurteilung: Das Heparin vermochte die durch Cholesterinfütterung hervorgerufene Arcusentwicklung nicht zu verhindern, wohl aber in ihrem Ausmass leicht einzuschränken.

Das Verhältnis der mittleren Arcuszahlen zwischen Gruppe K und H ist 100 : 76, das Verhältnis des mittleren Cholesteringehalts der Hornhaut 100 : 66.

Zwischen dem makroskopisch erhobenen Arcusbefund und dem entsprechenden Cholesteringehalt der Cornea sind meist deutliche, manchmal auch nur sehr grobe Beziehungen vorhanden.

4. Befunde am Augenhintergrund

Mit Ausnahme von Tier Nr. 15 (Gruppe H) konnten bei den Abschlussuntersuchungen bei keinem Versuchstier eindeutige Cholesterineinlagerungen am Augenhintergrund festgestellt werden.

Bei Tier Nr. 15 sah man am linken Fundus einzelne ganz zarte, glitzernde Pünktchen in der Netzhaut, welche wohl feinste Cholesterinablagerungen darstellen mochten. Der rechte Fundus war unauffällig.

5. Aortenbefunde

a) Makroskopische Ergebnisse

Während die Tiere der Vergleichsserie N bei der Autopsie keine atheromatösen Wandveränderungen zeigten, konnten bei sämtlichen Tieren der Gruppen K und H Cholesterineinlagerungen in den Aorten gefunden werden. Das Ausmass des Befalls wechselte erheblich. Prädilektionsstellen für die Lokalisation der atheromatösen Plaques waren der Arcus aortae und die Abgangsstellen der Interkostalarterien.

Bei der makroskopischen Einteilung der Befunde wurden 3 Grade nach folgenden Gesichtspunkten unterschieden:

- Grad I = einzelne feine Stippchen;
- Grad II = grössere Anhäufung von Stippchen bzw. kleine Plaques;
- Grad III = ausgedehnte flächenhafte atheromatöse Plaques.

Bei Gruppe K entsprachen die Veränderungen

- 1 mal Grad I,
- 3 mal Grad II und
- 3 mal Grad III,

- bei Gruppe H 3 mal Grad I,
- 1 mal Grad II und
- 2 mal Grad III.

b) Ergebnisse der Planigravimetrie.

Sie werden zusammen mit den makroskopischen Befunden und den

c) Ergebnissen der Cholesterinbestimmung in der Aorta in Tabelle 6 dargestellt.

Beurteilung der Ergebnisse: Mit Hilfe der Bestimmung der planimetrischen Gewichtszahlen konnte die makroskopische Gradeinteilung der atheromatösen Wandveränderungen präzisiert werden.

Die Ergebnisse der Planigravimetrie lassen allerdings keine zuverlässigen Schlüsse auf den entsprechenden Cholesteringehalt der Aorta zu.

Das Heparin war in der Lage, das Ausmass der Cholesterinablagerungen in der Aorta deutlich zu vermindern. Betrachtet man den atheromatösen Befall bei Gruppe K - bezogen auf den entsprechenden Durchschnittswert des Cholesteringehalts der Aorta - als 100 %ig, so errechnet sich für die Heparinhemmung bei Gruppe H ein Befall von lediglich 37 %.

Bezüglich der planigravimetrischen Ergebnisse ergibt sich das Verhältnis 100 % (Gruppe K) : 51 % (Gruppe H).

Tabelle 6: Ergebnisse der einzelnen Untersuchungen an den Aorten

Gruppe	Kaninchen Nummer	Makroskopischer Befall (in Graden)	Planimetrische Gewichtszahl (in Gramm)	Cholesteringehalt (in mg%)*
K	1	III	7,331	765
K	2	II	1,143	505
K	3	III	4,660	450
K	4	III	14,711	2929
K	5	-	-	-
K	6	I	0,934	224
K	7	II	3,591	298
K	8	II	1,957	532
=====				
K	Mittelwert:		4,9	815
=====				
H	9	-	-	-
H	10	III	3,919	478
H	11	III	6,912	299
H	12	I	0,182	-
H	13	I	0,216	-
H	25	-	-	-
H	15	I	1,013	226
H	16	II	2,895	216
=====				
H	Mittelwert:		2,5	305
=====				
N	26	-	-	69
N	27	-	-	98
N	29	-	-	134
N	30	-	-	193
N	31	-	-	95
N	32	-	-	81
=====				
N	Mittelwert:			112
=====				

*) Fehler der Methode: (durchschnittliche Differenz der jeweils durchgeführten Doppelbestimmungen in mg%) : 6 mg%.

6. Leber - Befunde

Durch die Cholesterinmast stieg der Cholesteringehalt in der Leber um ein Vielfaches seiner normalen Höhe, wobei die Einzelwerte allerdings erheblich von Tier zu Tier streuen. Der Mittelwert bei Gruppe K überragt den Mittelwert bei Gruppe N (Normalwert) um mehr als das 7 fache, der Mittelwert bei Gruppe H den Normalwert um mehr als das 3 fache. Die im einzelnen gefundenen Werte der Cholesterinbestimmung in der Leber sind in Tabelle 7 dargestellt.

Beurteilung der Ergebnisse: Unter der Einwirkung von Heparin war die Cholesterinanreicherung in der Leber deutlich vermindert. Das Ausmass der Heparinhemmung liegt um 49 %.

7. Nebennieren - Befunde

Die Nebennieren sind als bevorzugte Cholesterinspeicherungsorgane bekannt. Zu Versuchsende überstieg das Nebennierengewicht sämtlicher cholesteringefütterter Tiere (Gruppe K und H) das Doppelte des Normalen (Gruppe N). Die einzelnen Wägungsergebnisse sind in Tabelle 7 neben den Leberbefunden aufgeführt.

Beurteilung der Ergebnisse: Das Heparin zeigte keinerlei Einfluss auf die Cholesterinspeicherung in den Nebennieren.

Tabelle 7: Leber- und Nebennierenbefunde

Gruppe	Kaninchen Nummer	Cholesteringehalt der Leber * (in mg%)	Gewicht der Nebennieren (in Milligramm)	
			rechte	linke
K	1	810	426	450
K	2	1280	268	316
K	3	2560	1000	1093
K	4	2260	346	341
K	5	-	-	-
K	6	600	493	477
K	7	2204	370	370
K	8	1280	401	475
=====				
K	Mittelwert:	1571	488	
=====				
H	9	-	-	-
H	10	660	338	393
H	11	468	295	318
H	12	-	510	600
H	13	-	325	389
H	25	-	-	-
H	15	1219	352	403
H	16	732	575	657
=====				
H	Mittelwert:	770	430	
=====				
N	26	122	225	271
N	27	202	205	207
N	29	243	136	169
N	30	242	191	219
N	31	228	250	324
N	32	166	258	208
=====				
N	Mittelwert:	201	222	
=====				

*) Fehler der Methode: (durchschnittliche Differenz der jeweils durchgeführten Doppelbestimmungen in mg%) : 4 mg%.

8. Histologische Milzbefunde

Bei der mikroskopischen Untersuchung der Milz konnten vom völligen Fehlen fettiger Infiltrationen bis zur massiven Verfettung sämtliche Abstufungen beobachtet werden. Das Ausmass des jeweiligen lipomatösen Befalls wird in der folgenden Beschreibung der Ergebnisse nach Graden unterschieden; die Bedeutung der einzelnen Grade sei daher kurz definiert:

Grad 0 = keine Fetteinlagerungen

Grad I = geringe Fetteinlagerungen

Grad II = mässige bis mittelstarke Fetteinlagerungen

Grad III = sehr starke Fetteinlagerungen.

Es sei darauf hingewiesen, dass diese Gradeinteilung auch unten bei der Beschreibung der histologischen Herz- und Augenbefunde verwendet wird.

Die Tiere der Gruppe K zeigten fast ausnahmslos sehr starke intrazelluläre Verfettungen im Bereich der roten Milzpulpa (Grad III), während die weisse Pulpa deutlich geringer befallen war (teils I, teils II). Die Wände der Milzgefässe waren so gut wie immer dicht von Cholesterin durchsetzt und die Lumina der Gefässe beträchtlich eingeengt (III bzw. II - III).

Bei den heparinbehandelten Tieren der Gruppe H war die rote Pulpa in zwei Dritteln der Fälle ebenfalls massiv betroffen (III), beim restlichen Drittel wurden nur geringfügige Fetteinlagerungen (I) gefunden. Der Befall der weissen Pulpa war ebenfalls etwas geringer (I) als bei Gruppe K. Die Gefässe zeigten wechselnd starke lipomatöse Einlagerungen (0 - I bis III).

Bei den 6 Tieren der Gruppe N fanden sich jeweils einzelne Fettröpfchen in den Retikulumzellen der roten Pulpa sowie interzellulär (I), in der weissen Pulpa entsprachen die Veränderungen ebenfalls überwiegend Grad I, manchmal Grad 0 - I. Die Gefässe waren fast immer frei (0 bzw. 0 - I).

In Tabelle 8 sind die bei den einzelnen Tieren angetroffenen Befunde wiedergegeben. Um die erhaltenen Ergebnisse besser vergleichbar zu machen, wurden anhand des jeweiligen Verfettungsgrades der einzelnen Organteile versuchsweise in jeder Gruppe Mittelwerte errechnet, die in arabischen Zahlen ausgedrückt sind.

Beurteilung der Ergebnisse: Das Heparin schränkte die durch die Cholesterinfütterung hervorgerufenen Veränderungen in der Milz höchstens geringgradig ein. Gemessen an den durchschnittlichen Befunden bei Gruppe K (Ausmass der Fetteinlagerungen in rote,

weisse Pulpa und Milzgefäße je = 100 %) würden sich für die Gruppe H etwa folgende Durchschnittswerte des lipomatösen Befalls der Milz ergeben:

rote Pulpa	79 %
weisse Pulpa	79 %
Milzgefäße	69 %.

9. Histologische Herzbefunde

Die Intensität der Fetteinlagerungen wird auch hier wie bei den histologischen Befunden der Milz in Graden ausgedrückt (Graddefinition siehe oben).

Bei der Gruppe K konnte in den Herzmuskelfasern nur ein einzigesmal grösste Verfettung (Grad III) beobachtet werden; gröbere Tropfen in der Muskulatur (II) oder nur geringe Fetteinlagerungen (I) wurden dagegen als häufige Befunde vermerkt. Die Intima der Herzgefäße war meist dicht von Cholesterin durchsetzt bzw. völlig verfettet und verquollen, so dass kaum noch ein Lumen vorhanden war (III). Nur in wenigen Fällen waren diese Veränderungen nicht ganz so deutlich ausgeprägt (II - III, II, 0 - I). Im allgemeinen waren die kleineren Gefäße stärker betroffen als die grösseren.

Bei der Gruppe H zeigte sich die Muskulatur meist nur mittelstark bzw. wenig mit Fett durchsetzt (meist I oder II). Der Befall war vielleicht etwas geringer als bei Gruppe K (Zahlenverhältnis der annähernden Mittelwerte K : H = 1,6 : 1,3 = 100 % : 89 %). Die Gefäße boten im ganzen einen Befund dar, der ungefähr dem bei Gruppe K entsprach (2,4 : 2,3).

Bei sämtlichen Tieren der Gruppe N waren dagegen in den Muskelfasern nur feine, diffus verteilte sudanophile Stäubchen (0 - I bzw. I) zu beobachten. Die Gefäße waren mit einer einzigen Ausnahme (leicht rötliche Tingierung der Intima im Sinne von Grad 0 - I) frei von sudanophilen Substanzen.

Die einzelnen Ergebnisse der histologischen Untersuchungen am Herzen sowie die Gruppenmittelwerte der lipomatösen Veränderungen finden sich ebenfalls in Tabelle 8 aufgezeichnet.

Beurteilung der Ergebnisse: Der Einfluss, den das Heparin auf die Fettablagerungen im Herzen ausübte, war äusserst bescheiden.

Tabelle 8: Histologische Milz-, Herz- und Augenbefunde

Kaninchen		Milz			Herz		Augen- Organe
Gruppe	Nr.	Rote Pulpa	Weisse Pulpa	Gefässe	Muskulatur	Gefässe	
K	1	++	++	+++	++	+++	++(+)
K	2	+++	+	+++	+++	+++	ø
K	3	+++	++	++(+)	++	++(+)	ø
K	4	+++	+	++	+(+)	++	ø
K	6	+++	+	+++	(+)	(+)	ø
K	7	+++	+	++(+)	+	+++	++
K	8	+++	++	++(+)	+	+++	ø
Mittel		2,9	1,4	2,6	1,6	2,4	
H	10	+++	+(+)	+++	++	++	ø
H	11	+	+	++	++	(+)	ø
H	12	+++	+	++	+	+++	++(+)
H	13	+++	+	++(+)	+	++(+)	++
H	15	+++	+	+	+(+)	+++	ø
H	16	+	+	(+)	(+)	+++	ø
Mittel		2,3	1,1	1,8	1,3	2,3	
N	26	+	(+)	(+)	(+)	(+)	-
N	27	+	+	+	(+)	-	ø
N	29	+	(+)	(+)	+	-	-
N	30	+	+	-	(+)	-	ø
N	31	+	+	-	(+)	-	ø
N	32	+	+	-	(+)	-	ø
Mittel		1,0	0,8	0,2	0,5	0,1	

Zeichenerklärung:

Das Ausmass der lipomatösen Einlagerungen wird in Graden dargestellt und zwar bedeuten

- +++ = Grad III
- ++(+) = Grad II - III
- ++ = Grad II
- +(+) = Grad I - II
- +
- (+) = Grad 0 - I
- = keine Fetteinlagerung
- ø = keine Untersuchung

10. Histologische Augenbefunde

Da insgesamt nur 6 Augen (aus den Gruppen K, H und N je 2 Augen) mikroskopisch untersucht wurden, dürfte es zweckmässig sein, die Befunde im einzelnen kurz darzustellen.

Das Ausmass der Fettablagerungen in den einzelnen Augenorganen wird ebenfalls in den Graden 0 - III angegeben. Genaue Graddefinition siehe oben bei den histologischen Milzbefunden.

Tier Nr. 1 (Gruppe K) - linkes Auge:

Reichliche Fettinfiltration im Limbusbereich in den äusseren Hornhautschichten bis in das mittlere Drittel, übrige Hornhaut frei. Dichte Infiltration der tieferen, aderhautnahen Skleraschichten mit sudanophilen Substanzen (Grad III), besonders in Ziliarkörperrnähe, sonst nicht so stark (II - III). Sehr massive Verfettung des Ziliarkörpers (III), mässige Ablagerungen im Zwischen- gewebe der Iris (I - II) und in den Gefässen (II). Aderhaut nicht sicher zu beurteilen.

Mittleres Ausmass der Fetteinlagerungen: Grad II - III.

Tier Nr. 7 (Gruppe K) - linkes Auge:

Fettinfiltrationen in typischer Lokalisation (siehe Kaninchen Nr. 1) mittel- starker Ausprägung: Grad II.

Tier Nr. 12 (Gruppe H) - linkes Auge:

Oberflächliche Hornhautschichten in Limbusnähe, tiefe Skleraschichten und Ziliarkörper stark befallen (Grad III), Irisgefässe geringer betroffen (I - II); feine Stäubchen auch in der Netzhaut (I).

Mittleres Ausmass der Fetteinlagerungen: Grad II - III.

Tier Nr. 13 (Gruppe H) - rechtes Auge:

Befall der Hornhaut im Limbusbereich im Sinne von Grad II, mässige Verfettung der oberen Schichten. Ziliarkörper sehr stark befallen (III). Im Irisstroma sind einzelne Zellen stark mit sudanophiler Substanz beladen; nur geringe Ablagerungen in der Gefässintima (I); Irisstroma Grad I - II. Die tieferen Skleraschichten zeigen mässig ausgeprägte Ablagerungen (II).

Mittleres Ausmass der Fetteinlagerungen: Grad II.

Tier Nr. 26 (Gruppe N) - linkes Auge:

Keine Einlagerung von Fettstoffen: Grad 0.

Tier Nr. 29 (Gruppe N) - rechtes Auge:
Alle Organteile fettfrei; Grad 0.

Die erhobenen histologischen Augenbefunde sind der Vollständigkeit halber ebenfalls in Tabelle 8 unter Berücksichtigung des Grades der Fettinfiltration wiedergegeben. Für eine orientierende Mittelwertbildung ist die Zahl der Beobachtungen in jeder Gruppe allerdings zu gering.

Beurteilung der Ergebnisse: Die orientierenden histologischen Augenbefunde liessen in Gruppe K und Gruppe H bezüglich Lokalisation und Ausmass der sudanophilen Einlagerungen etwa gleiche Verhältnisse erkennen. Quantitative Unterschiede im Umfang der Fettinfiltration sind durch Untersuchung histologischer Schnitte allerdings schwer zu erfassen; die von HOLLENBACH durchgeführten quantitativen Cholesterinbestimmungen in einzelnen Augenorganen sind in dieser Richtung aufschlussreicher.

E. BESPRECHUNG DER ERGEBNISSE

Durch die fortlaufende Cholesterinfütterung wurde bei sämtlichen Versuchstieren ein enormer progredienter Anstieg des Serumcholesteringehalts erzielt; dabei bestanden von Tier zu Tier oft erhebliche Schwankungen der einzelnen Werte. Nach 11 Wochen Fütterungszeit lag der Serumcholesterinspiegel bei den meisten Kaninchen bereits über 1000 mg% (Normalwert = 50 - 100 mg%) und erfuhr in der Folgezeit vielfach noch eine weitere beträchtliche Steigerung. Die zu den einzelnen Untersuchungsterminen sich ergebende Differenz zwischen den Serumcholesterin - Gruppenmittelwerten von Serie K (Kontrolltiere) und H (Heparintiere) war zu minimal, um dem Heparin eine Wirksamkeit zusprechen zu können. Die hierin von uns beobachtete Wirkungslosigkeit des Heparins ist umso beachtenswerter, als zu keinem Zeitpunkt der Untersuchungen ein wesentlicher Unterschied bezüglich des Serumcholesteringehalts zwischen den Kontroll- und Heparintieren festgestellt werden konnte.

Das oben Gesagte gilt auch für die Beurteilung der Ergebnisse, welche die mehrfach durchgeführten Bestimmungen des Serumphosphorlipoidgehalts ergaben. Hier erreichten allerdings die Werte bereits nach 5 Wochen Fütterung ihre maximale Steigerung, d.h. die 3 - 6 fache Höhe des Normalwerts (Normalwert = 25 - 95 mg%), ganz unabhängig davon, ob die Versuchstiere neben dem Cholesterin noch Heparin verabreicht bekamen oder nicht.

Die in der Literatur sehr häufig beschriebene Beobachtung, dass Heparin die Bildung der grossen β -Lipoproteidmoleküle verhindert oder zumindest einschränkt, fand durch die Ergebnisse der eigenen Untersuchungen keine Bestätigung. Sowohl bei der Kontroll- wie bei der Heparinserie nahm zugleich mit der fortlaufenden Cholesterinmast die Zahl der kleinemolekularen α -Lipoproteide kontinuierlich zugunsten einer Zunahme der grössermolekularen β -Lipoproteide ab, sodass der α -Anteil nach 7 Wochen Cholesterinfütterung nur noch 7 % betrug. Dieses Verhältnis wurde auch bei den folgenden späteren Untersuchungen jeweils unverändert angetroffen.

Unsere blutchemischen Ergebnisse stehen also im Widerspruch zu denen, welche vor Jahren von LEVER, HRABANE und REINIS sowie SEITZ und ZÖLLNER veröffentlicht wurden. Die Autoren studierten allerdings die Beeinflussbarkeit der gestörten Blutlipoidwerte durch Heparin am menschlichen Blutserum, sodass Parallelen zum Tierexperiment nicht ohne weiteres gegeben sein müssen. In Übereinstimmung mit den Feststellungen von MOSES und RHODES fand sich jedenfalls in den eigenen Untersuchungen kein nachweisbarer Einfluss des Heparins auf das Verhalten der Blutlipide.

Die Entstehung und Weiterentwicklung des Arcus lipoides corneae war bei den he-

parinbehandelten Tieren im Vergleich zu den Kontrolltieren im zeitlichen Auftreten etwas verzögert und im Ausmass der Ausbildung vermindert. Freilich war der Unterschied nicht allzu auffällig, vor allem nicht zu Versuchsende, wo die Arcusbefunde im ganzen betrachtet bei den Heparintieren um 24 % geringer ausgeprägt waren als bei den Cholesterintieren. Interessant ist, dass sich auf Grund der Cholesterinbestimmung in der Hornhaut diese Differenz auf 34 % erhöhte. Hieraus wird deutlich, dass selbst der sorgfältigst erhobene makroskopische Arcusbefund keinen absolut sicheren Schluss auf die tatsächliche Intensität der Cholesterinimprägnation zulässt.

Welch grosse Bedeutung dem Traumafaktor bei der Entwicklung des Arcus lipoides zukommt, wurde aus den Beobachtungen am linken Auge von Tier Nr. 11 deutlich. Innerhalb von wenigen Tagen entwickelte sich aus einer zarten Arcusandeutung ein hochgradiger, breiter Arcus, obgleich das betreffende Tier täglich 1000 Einheiten Heparin intramuskulär verabfolgt bekam.

Bemerkenswerterweise fanden sich zu Versuchsende trotz der beständigen, massiven Cholesteringaben bei beiden Versuchsgruppen am Augenhintergrund keine wesentlichen Veränderungen.

Dass das Heparin imstande ist, Cholesterinablagerungen in Gefässwänden und Organparenchymen weitgehend entgegenzuwirken, bestätigten die Leber- und Aortenbefunde. Die günstigen Ergebnisse sind dabei umso bemerkenswerter, als die mit Heparin behandelten Tiere und die Tiere, welche kein Heparin zusätzlich erhalten hatten, hinsichtlich ihrer blutchemischen Befunde völlig einander entsprachen.

Die Cholesterinbestimmung in der Leber liess einen beachtlichen Unterschied zwischen den Kontroll- und Heparintieren erkennen. Bei ersteren lag der Cholesterin-gehalt durchschnittlich doppelt so hoch wie bei den letzteren.

Hinsichtlich des Cholesteringehalts der Aorta lagen bei Gruppe H die Werte im Mittel sogar um 63 % niedriger als bei Gruppe K. Makroskopisch (planigravimetrisch) machte sich der Heparineinfluss in einem um durchschnittlich ca. 49 % geringeren atheromatösen Befall der Aorta bemerkbar. Erwähnenswert ist, dass auch hier die Beziehungen zwischen dem makroskopischen Befund und dem exakt quantitativ ermittelten Cholesteringehalt nicht in jedem Fall eindeutig waren.

Die Heparinhemmung zeigte sich im ganzen an Aorta und Leber recht eindrucksvoll.

In diesem Punkte können wir uns also nicht den negativen Feststellungen von MOSES und RHODES anschliessen, sondern unsere Beobachtungen gehen konform mit denen von GOFMAN, KEESER sowie SEITZ und ZÖLLNER, welche mit Anwendung von Heparin ebenfalls eine Atheromatose der Aorta weitgehend hintanhaltten konnten.

Dagegen hatte die Heparinzugabe keinen Einfluss auf das Quantum der Cholesterinspeicherungsmenge in den Nebennieren.

Auf Grund der günstigen Aorten- Leber- Resultate war damit zu rechnen, dass auch die histologischen Untersuchungen an Herzmuskel und Koronargefässen, Milz und Augenorganen deutliche Hinweise für eine gegen Fettablagerungen gerichtete Heparinwirksamkeit liefern würden. Waren anhand der Schnittpräparate von Herz und Milz wenigstens noch gewisse Anzeichen eines Heparineinflusses nachweisbar, so liessen jedoch die histologischen Augenbefunde jegliche Spuren einer Heparin- hemmung vermissen.

Betrachtet man nun bei jedem Tier (sowohl Heparin- wie Kontrolltiere!) vergleichend die verschiedenen Einzelergebnisse, so stellt sich - den Erwartungen entgegen - heraus, dass die einzelnen Befunde eigentlich keine sinnvoll erscheinenden Beziehungen zueinander haben.

Ein Beispiel mag diese Feststellung veranschaulichen: Man möchte annehmen, es müsse, falls bei einem Tier eine hochgradige Arcusausbildung angetroffen wird, ein entsprechend hoher Serumcholesterinspiegel vorliegen. Die gefundenen Tatsachen lauten aber anders, denn z.B. betrug der Serumcholesteringehalt

bei Kaninchen Nr. 3 trotz Arcusbefund Grad I 1549 mg%,

bei Kaninchen Nr. 7 mit Arcus - Grad I nur 622 mg% und

bei Kaninchen Nr. 11 trotz Arcus - Grad III nur 556 mg%.

Die Beobachtung der Arcus - Ausbildung gibt also nach unseren Untersuchungen keine Aufschlüsse darüber, wie stark der Blutlipoidgehalt erhöht ist und inwieweit die einzelnen Organe von Fettablagerungen betroffen sind. So können z.B. auch von der Höhe des Cholesteringehalts der Leber keinerlei Schlüsse auf die entsprechenden Verhältnisse in der Aorta gezogen werden.

Bei der Beurteilung unserer Ergebnisse muss berücksichtigt werden, dass wir einerseits eine relativ sehr hohe Cholesterin - Öl - Dosis verfütterten und andererseits das Heparin intramuskulär und nicht - wie meist üblich - intravenös injizierten. Hier sind vielleicht die Gründe zu suchen, warum die Heparinwirkung nicht noch deutlicher zur Geltung kam.

Die wichtigste Beobachtung der eigenen Tierversuche dürfte sein, dass Heparin das Ausmass von Cholesterinablagerungen in Gefässwänden und Körperorganen weitgehend einzuschränken vermochte, obwohl es keinen nachweisbaren Einfluss auf die Blutlipide zeigte. Dies führt zu dem bemerkenswerten Schluss, dass auch Substanzen, die ohne deutlichen Einfluss auf das Verhalten bestimmter Serumlipide sind, einer Ablagerung von Cholesterin in Körperorgane in gewissem Umfange vorbeugen können. Ein entsprechender Effekt kann also vorliegen, ohne an dem Verhalten gewisser Blutfettstoffe erfassbar zu sein.

F. ZUSAMMENFASSUNG

16 Kaninchen bekamen über einen Zeitraum von mehr als 13 Wochen je 1,0 g Cholesterin und 2,0 ccm Olivenöl täglich per Schlundsonde verabreicht. 8 von diesen Tieren wurden zusätzlich je 10 mg Heparin täglich mittels intramuskulärer Injektionen zugeführt. Es sollte der Einfluss von Heparin auf Cholesterinablagerungen untersucht werden.

Die Zugabe von Heparin zeigte keinerlei Wirkung auf den beträchtlichen Anstieg des Blutcholesterins und der Phosphorlipide, ebenso vermochte sie nicht die relative Zunahme der grobdispersen β -Lipoproteidfraction zu verhindern.

Das Heparin war jedoch imstande, die Ausbildung des Arcus lipoides corneae - wenn auch nur mässig - zu verzögern und in ihrem Ausmass zu verringern.

Den atheromatösen Veränderungen in Aorta und Leber wirkte das Heparin eindeutiger entgegen. Zwar konnte die Ablagerung von Cholesterin nicht vermieden, wohl aber im Vergleich zu den Kontrollen erheblich vermindert werden. Die quantitativen Cholesterinbestimmungen ergaben Werte, die um 50 - 60 % niedriger als bei den nur mit Cholesterin behandelten Kontrolltieren lagen.

Dagegen liessen die Ergebnisse der histologischen Untersuchungen an Milz, Herz und Augen überzeugende Anzeichen einer Wirksamkeit des Heparins vermissen.

G. SCHRIFTTUMSVERZEICHNIS

- v. ALBERTINI, A.: Symposium über Arteriosklerose, Basel 1956, S. 152
Verlag Benno Schwabe, Basel
- ANDERSON, N.G.: Proc. Soc. Exper. Biol. Med. 74, 768 (1950)
- ANFENSEN, C.B. und Mitarbeiter:
Science 115, 583 (1952)
- ANITSCHKOW, N.: Arteriosclerosis, by N.Y. Cowdry, p. 271
London, Macmillan u. Co. 1933
Klin. Wschr. 4, 2233 (1925)
- ANTONINI, F.A. und SALVINI, L.:
Symposium über Arteriosklerose, Basel 1956, S. 209
Verlag Benno Schwabe, Basel
- BROWN, R.K. und Mitarbeiter:
J. Biol. Chem. 204, 423 (1953)
- CHARGAFF, E. und Mitarbeiter:
J. Biol. Chem. 136, 257 (1940)
- COPPO, M. und Mitarbeiter: Symposium über Arteriosklerose, Basel 1956, S. 179
Verlag Benno Schwabe, Basel
- ENGELBERG, H.: Amer. J. Med. Sci. 224, 487 (1952)
Amer. J. Med. Sci. 225, 14 (1953)
- EVANS, A.M. und Mitarbeiter:
Amer. J. Clin. Path. 22, 354 (1952)
- FISCHER, F.W. und KROETZ, Ch.:
Symposium über Arteriosklerose, Basel 1956, S. 268
Verlag Benno Schwabe, Basel
- FRINGS, H.D.: Dissertation München (1954)
- GOFMAN, J.W. und Mitarbeiter:
Circulation 2, 161 (1950)
Circulation 4, 666 (1951)
Science 111, 166 u. 168 (1950)
J. Gerontology 6, 105 (1951)
Modern Med. 1953, p. 119
- GRAHAM, D.M.: Circulation 4, 661 (1950)

- GRÜNER, A. und Mitarbeiter: Amer. J. Med. 14, 433 (1953)
- HAHN, P.F.: Science 98, 19 (1943)
- HRABANE, J. und REINIS, Z.: Vnitřní lek 2, 399 (1956)
ref. i. Kongr. Zbl. inn. Med. 173, 260 (1957)
- JORPES, HOLMGREN und WILANDER:
Z. mikroskop. anat. Forschung 42, 279 (1937)
- KEESER, E. und BENITZ, K.F.:
Med. Klin. 1953, S. 499
- KELLER, R.:
Medizinische 1954, S. 995
Medizinische 1955, S. 492
- LEVER, W.F. und Mitarbeiter: Science 118, 653 (1953)
- LOEWE, L. und Mitarbeiter: Angiology 4, 295 (1953)
- MOSES, C. und RHODES, G.L.:
Angiology 5, 429 (1954)
ref. i. Kongr. Zbl. inn. Med. 157, 389 (1955)
- RINZLER, S.H. und Mitarbeiter:
Federat. Proc. 12, 361 (1953)
- SCHETTLER, G.:
Wikliwo. 67, 767 (1955)
Erg. inn. Med. 6, 278 (1955)
- SEITZ, W. und ZÖLLNER, N.: Medizinische 1955, S. 955
- SIMON, E.P. und WRIGHT, J.S.:
J. Amer. Med. Ass. 153, 98 (1953)
- STARK, H.:
Klin. Mbl. Augenheilk. 130, 72 (1957)
Klin. Mbl. Augenheilk. 131, 165 (1957)
- THURNHERR, A. und NIEDERBERGER, W.:
Schweiz. med. Wschr. 1954, S. 285
Die Therapiewoche 7, 116 (1956/57)
- VOIGT, K.D. und Mitarbeiter: Z. Kreislaufforsch. 43, 2 (1954)
Clin. Chim. Acta 1, 364 (1956)
Dtsch. Arch. klin. Med. 204, 409 (1957)
- ZÖLLNER, N. und Mitarbeiter: Naturwissenschaften 39, 111 (1952)
Klin. Wschr. 32, 1096 (1954)

Abschliessend möchte ich Herrn Professor Dr. W. ROHRSCHEIDER für die Überlassung der Arbeit danken.

Besonderen Dank schulde ich Herrn Priv.-Doz. Dr. H.J. KÜCHLE für die Anweisung des Themas und die Unterstützung und Beratung während der Versuchsarbeit.

Herrn Dekan Professor Dr. H. SCHWIEGK danke ich für die Annahme der Arbeit.

LEBENS LAUF

Am 30. Juni 1934 wurde ich als zweites Kind des Justizoberinspektors Rudolf Lang und seiner Ehefrau Emma, geb. Flöhr, in Weiden/Opf. geboren.

Dort besuchte ich von 1941 bis 1946 die Volksschule und trat im September 1946 an das Humanistische Gymnasium in Weiden/Opf. über.

Nach Absolvierung desselben begann ich im November 1954 das Medizinstudium an der Universität München und legte dort im Februar 1957 die ärztliche Vorprüfung ab. Sämtliche klinischen Semester studierte ich ebenfalls an der Universität München, wo ich im Sommer 1960 das Medizinische Staatsexamen abgeschlossen habe.

